



TITLE:

自由:34 霊長類のクモ膜下腔を用いた脳脊髄液動態の検討(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

加藤, 文彦; 川上, 紀明; 松山, 幸弘

---

CITATION:

加藤, 文彦 ...[et al]. 自由:34 霊長類のクモ膜下腔を用いた脳脊髄液動態の検討(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1995, 25: 102-103

ISSUE DATE:

1995-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164654>

RIGHT:

タチンSおよびSAに相当すると思われるバンドの位置が異なっていたが、その他はヒトと類似したパターンを示した。但しシスタチンSに相当するバンドはヒトと類似したパターンを示すものの、リン酸化したシスタチンSの位置により濃いバンドが認められた。またシスタチンSN及びDに相当するバンドは、易動度は多少異なるものの、全ての種の唾液から検出された。次にCST1、CST2、CST3（シスタチンC）、CST4、CST5のExon部分を含む領域のPCR増幅を試みたところ、MmからはCST2、CST3、CST4のExon3を含む部分が増幅され、塩基配列もヒトの各遺伝子と類似した配列を示した。またCST2のExon3領域は全ての種のDNAから増幅され、それらの塩基配列を比較すると、約160bpの範囲で、ヒト-Gc-Phの3者、またMm-Mfuの2者は同じ配列を示した。さらに、So-Mfu、Mm-Mfu、Mm-Mfu-Ca-So、ヒト-Ph-So-Gcにはそれぞれに共通する変異が存在し、Mm、Ph、Soにはヘテロを示す部位が存在した。以上の如くシスタチン遺伝子は霊長類に共通の遺伝子群が存在し、発現していると共に各遺伝子群の塩基配列は種により特徴を異にしていた。

自由：33

血管内皮細胞にあるSAチャンネルの性質の解明

長谷川 昇（名古屋文理短大）

本研究は、サルにおける血管内皮細胞のSAチャンネルが圧受容にどのような役割を果たしているのかを明らかにするために行われた。この課題は前年度からの継続の内容であり、本年度は、内皮細胞を培養し、パッチクランプ法を行い、チャンネルの機能を明らかにする目的で行われた。

方法

血管内皮細胞の培養；胸部大動脈の両端をクランプし、できるだけ無菌的に摘出し、冷却した。血管内の血液を洗浄後、血管軸方向に切開し、メス刃により剥離した後、ディッシュにまき培養した。培養液は、ヒト血管内皮細胞用（ET-UV、三光純薬）を用い、2日おきに交換した。

SAチャンネルのスクリーニング；培養細胞をファイブロネクチンでコートしたカバーガラス上に培養し、通常のパッチクランプ法を用いて、チャネ

ル活性の変化を記録した。結果はPC-ATに取り込んで解析した。

結果

細胞を低浸透圧下におくと活性が上昇するチャンネルがみられた。このチャンネルは、膜電位が+80mVで、約50pSのコンダクタンスを示し、ピペット内の陰圧を増加させたときに活性化されるチャンネルと同じものと思われる。

この際、細胞体積が増加したかどうかに関しては、平面的な解析結果からは、はっきりした結果が得られなかった。同時に、細胞内カルシウムイオンの上昇を測定したところ、カルシウムイオンの増加が同時に起こるような傾向がみられたが、増加する部位の分布、増加量など定量的な結果を得るまでにはいたらなかった。現在、細胞膜を蛍光色素で染色し、3次元（縦方向）での細胞体積変化とカルシウム量の変化を解析中である。

考察

低浸透圧下でのチャンネル活性の増加はこのチャンネルの機能が細胞体積調節に関与している可能性を強く示唆するものである。この際、カルシウムイオンの上昇が同時に起こることが定量的に証明されれば、チャンネル活性化に伴う細胞内カルシウム上昇がトリガーとなり、多くの細胞機能が調節されていることが証明できる。

自由：34

霊長類のクモ膜下腔を用いた脳脊髄液動態の検討

加藤文彦・川上紀明・松山幸弘（名古屋大学・整形外科）

脳脊髄液には拍動を認めるが、どのような動態と流れで還流されているかはまだ不明である。一方、近年超音波エコー機器の発達により、ヒトの手術中に脊髄の形態、拍動が観察可能となり、手術の予後予測に役立てられている。また最近、心臓超音波エコーによる心臓機能判定のために超音波エコー用の造影剤（アルブネックス）が市販され臨床で用いられている。アルブネックスが脳脊髄液の動態観察に利用可能か否かを検討し、髄液動態を解明することを研究目的とした。

アルブネックスは心臓超音波エコーによる心臓機能判定のために超音波エコー用の造影剤として開発されたもので、すでに市販され臨床で用いら

れている。この本体はヒトのアルブミンを泡沫化したものであり、静脈注射された場合は肺でアルブミンに変化する。クモ膜下腔に注入した場合の影響は家兎で調べたが、神経組織に対しては無害であることが確認されている。

しかしながら霊長類以外の動物ではクモ膜下腔が細く、馬尾部がほとんどなく超音波エコーでの観察は不可能である。サルでは脊髓円錐が第3腰椎高位にあり、第4～7腰椎部では馬尾部となっており、ヒトに極めて類似し、同部での超音波エコーによる観察が可能である。

実験殺の予定されたアカゲザルにおいて、全身麻酔後、実験殺前に腰椎部の椎弓切除をし、クモ膜下腔にアルブネックスを注入し、ヒトの術中超音波エコー診断装置を用いて脳脊髄液の動態を観察した。なお実験開始から実験殺までの所用時間は約30分であった。実験殺の後、馬尾部を摘出し、光顕的組織学的検討を行った。

実験結果として、アルブネックスが脳脊髄液の超音波エコー上の造影効果があることは判明したが、今回は脳脊髄液の動態をとらえるまでには至らなかった。また組織学的検討で、アルブネックスが霊長類のクモ膜、馬尾神経においても形態学的に影響を認めないとおが確認された。

自由：35

#### 霊長類・嗅覚器官に関する分子生物学的研究

宮脇敦史・松下文雄（東大・医科研・化学）

我々はマウス鋤鼻器に特異的に発現する二つのリボカリン蛋白質の遺伝子をクローニングし、報告した。リボカリン蛋白質は、疎水性、脂溶性、揮発性の低分子を運搬する分泌性蛋白質であり、一般の嗅上皮の粘液層にも存在し、揮発性におい分子の感知に必須の働きをするものと考えられている。鋤鼻器は、殊にゲッ歯類に於いて顕著に発達しており、フェロモンを感知する器官である。動物個体間の化学的伝達に関わり、性行動、授乳行動、社会行動の確立に必要な器官である。我々がクローニングしたリボカリン（VNSP I, VNSP II）は、鋤鼻器感覚上皮をおおう粘液層に認められ、哺乳類動物のフェロモンとして揮発性分子が働くことが示唆される。昨今、ヒトのフェロモンの存在、媚薬の効能が云々されているが、そも

そもヒトに鋤鼻器が在るのか否かは未だ論議が多い。ヒトとゲッ歯動物をつなぐべき霊長類を扱うことで、鋤鼻器の系統発生に着目できると考えた。霊長類に於いては、原猿類、真猿類の新世界ザルには鋤鼻器が有り、真猿類の旧世界ザル、類人猿には無いとされている。原猿類、真猿類にわたって十数種類のゲノムDNA（竹中教授によるサンプル）を用いて、先のVNSP I, VNSP IIをプローブとしてゾープロッティングを行った。陽性対照のマウス以外にはシグナルが認められず、この遺伝子が種間でそれほど保存されていないことが示された。ハイブリダイゼーションの条件を変えることで、この遺伝子の種間変更の度合いを検討している。また、旧世界ザル（ニホンザル）の鼻中隔組織からRNAを抽出し、VNSP I, VNSP IIに相当するcDNAをクローニングしつつある。この分子を追跡することで、サル世界に観られるケミカルコミュニケーションを解析できればと考えている。

自由：36

#### βグロビン遺伝子領域のRFLPによるマカクの種間および種内変異

針原伸二（東京大学・理・人類）  
清水宏次（鳴門教育大・学校教育）

本研究ではカニクイザルなどマカク属サルの、βグロビン遺伝子領域にみられる変異を解析し、種内および種間変異性についての記載と考察をめざすものである。今年度は竹中らの1988年の調査で得た、タイのカニクイザルの試料について、γグロビン遺伝子の重複の有無の確認、βグロビン遺伝子族の領域にみられるRFLPの検出を試みた。

ニホンザルでは、ヒトと同様に胎児型ヘモグロビン遺伝子は、重複により2つあること（GγおよびAγグロビン遺伝子）が清水らの以前の研究でわかっていた。今回はカニクイザルでも遺伝子重複がみられるかどうかを、HPLC法によるPCR増幅産物の定量分析で検討した。その結果は良好ではなかったが、生成された産物はヒトの場合と同じ大きさであることは確認された。また生成された産物を制限酵素、BamH Iにより切断したところ、

2これまでのところ、タイのカニクイザルでは